



#### Φράγκου Φ.Χ.

Κτηνίατρος, PhD, Διαγνωστικό Εργαστήριο & Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Δημητρακοπούλου Φ.

Κτηνίατρος, MSc, Κτηνιατρική Εργαστηριακή Διάγνωση, Θεσσαλονίκη

#### Αδαμαμά-Μωραΐτου Κ.Κ.

Κτηνίατρος, PhD, Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Πουταχίδης Θ.

Κτηνίατρος, PhD, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Πρόσινος Ν.Ν.

Κτηνίατρος, PhD, Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Κωνσταντίνος Α.Ο.

Κτηνίατρος, Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Κριτσέπη-Κωνσταντίνου Μ.

Κτηνίατρος, PhD, Διαγνωστικό Εργαστήριο, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Ράλλης Τ.Σ.

Κτηνίατρος, PhD, Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.

#### Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Φωτεινή Φράγκου,  
Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής,  
Σχολή Επιστημών Υγείας, Α.Π.Θ.,  
Σταύρου Βουτυρά 11, 54627 Θεσσαλονίκη  
Τηλ: 6972848967  
e-mail: foteinif@hotmail.com

# Διερεύνηση του βακτηριακού πληθυσμού του δωδεκαδακτύλου και της παρουσίας βακτηρίων στη χολή σε γάτες με χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, χολαγγειίτιδα, παγκρεατίτιδα, τριαδίτιδα και λέμφωμα του λεπτού εντέρου, σε σύγκριση με υγιείς γάτες

## > Περίληψη

Η αιτιοπαθογενετική σχέση της χλωρίδας του εντέρου και της παρουσίας βακτηρίων στη χολή στα γαστρεντερικά νοσήματα της γάτας δεν έχει διερευνηθεί. Σκοπός της μελέτης ήταν η βακτηριολογική ανάλυση του οπού δωδεκαδακτύλου και της χολής σε γάτες με χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (ΦΝΕ), χολαγγειίτιδα, παγκρεατίτιδα και συνδυασμό αυτών (τριάδιτιδα), καθώς και σε γάτες με εντερικό λέμφωμα. Στην προοπτική αυτή μελέτη εντάχθηκαν σαράντα εννέα ασθενείς γάτες, 45 γάτες (25 συμπρωματικές, 20 ασυμπρωματικές) με ιστολογικά ευρήματα ΦΝΕ, ή/και χολαγγειίτιδας, ή/και παγκρεατίτιδας, 4 γάτες με εντερικό λέμφωμα, καθώς και 8 φυσιολογικές γάτες. Δείγματα οπού δωδεκαδακτύλου και χολής συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια ερευνητικής λαπαροτομής. Σ'αυτά έγινε καλλιέργεια υπό αερόβιες, αναερόβιες και μικροαερόφιλες συνθήκες για την απομόνωση, καταμέτρηση και ταυτοποίηση βακτηρίων, ακολουθώντας κλασικές μικροβιολογικές μεθόδους. Η σύγκριση του βακτηριακού πληθυσμού του δωδεκαδακτύλου μεταξύ των ομάδων των υπό διερεύνηση γατών ως προς την ανάπτυξη αερόβιων ( $P=0,831$ ), αναερόβιων ( $P=0,406$ ) και του συνολικού πληθυσμού βακτηρίων ( $P=0,752$ ) δεν ανέδειξε στατιστικές σημαντικές διαφορές. Στατιστικώς σημαντική διαφορά σημειώθηκε στις γάτες με τριάδιτιδα ως προς την ανάπτυξη των αναερόβιων *Clostridium* spp. ( $P=0,055$ ). Τα δείγματα χολής των φυσιολογικών και το πλείστον (48/49, 98%) των ασθενών γατών ήταν αρνητικά στην ανάπτυξη βακτηρίων. Ωστόσο, σε ένα δείγμα χολής γάτας με ΦΝΕ και παγκρεατίτιδα παρατηρήθηκε ανάπτυξη στελέχους *Enterobacter cloacae*. Οι φλεγμονώδεις νόσοι του λεπτού εντέρου, του ήπατος και του παγκρέατος δε συνδέονται με ανάπτυξη βακτηρίων στη χολή. Η πιθανότητα η τριάδιτιδα να σχετίζεται με υπερανάπτυξη αναερόβιων βακτηρίων της εντερικής χλωρίδας, όπως των *Clostridium* spp., απαιτεί περαιτέρω έρευνα με χρήση ευαίσθητων μοριακών τεχνικών για να επιβεβαιωθεί.

## > Εισαγωγή

Η εντερική χλωρίδα του σκύλου και της γάτας αποτελείται από μερικές εκατοντάδες έως χιλιάδες είδη αερόβιων, μικροαερόφιλων και υποχρεωτικά αναερόβιων βακτηρίων, με σύνθεση ιδιαίτερη και χαρακτηριστική του κάθε ζώου και διαφορές ακόμα και μεταξύ των ατόμων του ίδιου είδους. Ωστόσο, η βασική της σύνθεση δεν είναι πλήρως γνωστή.<sup>1</sup> Σύμφωνα με έρευνες που στηρίζονται στην καλλιέργεια,<sup>2,3,4</sup> τα κυριότερα



## Λέξεις- κλειδιά

- Γάτα
- Εντερική χλωρίδα
- Τριάδιτιδα
- Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
- Χολή



είδη βακτηρίων που επικρατούν στο λεπτό έντερο της γάτας είναι η *Escherichia coli* και είδη των γενών *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* και *Clostridium*, σε ποσοστά που ποικίλλουν κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα πλησιάζοντας προς το παχύ έντερο. Στο στομάχι έχουν αναφερθεί πληθυσμοί από  $10^1$  έως  $10^6$  cfu/g, ενώ στο δωδεκαδάκτυλο και τη νήστιδα πληθυσμοί βακτηρίων από  $10^5$  έως και  $10^9$  cfu/ml σε ορισμένες γάτες. Ο αριθμός και η ποικιλότητα των ειδών των βακτηρίων αυξάνονται στον ειλεό ( $10^7$  cfu/ml) και ακόμα περισσότερο στο κόλον ( $>10^9$  cfu/ml).<sup>2,14</sup> Αερόβια είδη ανιχνεύονται σε μεγαλύτερα ποσοστά στα πρόσθια τμήματα του εντερικού σωλήνα, ενώ αναερόβια είδη επικρατούν στο κόλον. Στη γάτα, ωστόσο, ο αριθμός των αναερόβιων βακτηρίων που αποικίζουν το λεπτό έντερο φαίνεται να είναι μεγαλύτερος σε σχέση με αυτόν του σκύλου.<sup>2,4,5</sup>

Τα τελευταία χρόνια αποδεικνύεται ότι, όπως στον άνθρωπο, έτσι και στο σκύλο και τη γάτα, αλλαγές στη σύνθεση της χλωρίδας του εντέρου εμπλέκονται σε χρόνιες εντεροπάθειες.<sup>6-13</sup> Υψηλότερες του φυσιολογικού συγκεντρώσεις εντερικών βακτηρίων στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου χαρακτηρίζουν το σύνδρομο της εντερικής βακτηριακής υπερανάπτυξης, το οποίο ενοχοποιείται για την εμφάνιση χρόνιων γαστρεντερικών συμπτωμάτων. Η βασική μέθοδος διάγνωσης είναι η καλλιέργεια υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες του εντερικού περιεχομένου που συλλέγεται από τον αυλό του δωδεκαδακτύλου.<sup>14,15</sup> Θεωρείται ως υπερανάπτυξη των βακτηρίων στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου στη γάτα η αύξησή τους σε πληθυσμούς άνω των  $1,1 \times 10^9$  cfu/ml εντερικού περιεχομένου.<sup>4,14,15</sup> Στις υγιείς γάτες ο συνολικός αριθμός των βακτηρίων στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου εμφανίζει μεγάλες διακυμάνσεις και συχνά ξεπερνά τα μεγέθη που αρχικά ορίστηκαν ως βακτηριακή υπερανάπτυξη. Επιπρόσθετα, εκτός από τις μεταβολές στον αριθμό των βακτηρίων μεγάλη σημασία έχει και η μεταβολή των ειδών των βακτηρίων που απαρτίζουν την χλωρίδα του εντέρου, διαταραχή που περιγράφεται με τον όρο «εντερική δυσβίωση» (intestinal dysbiosis).<sup>5,15</sup>

Οι μεταβολές στη σύνθεση της χλωρίδας στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου, όπως και η παρουσία βακτηρίων στη χολή και η αιτιοπαθογενετική σχέση αυτών στα φλεγμονώδη νοσήματα του γαστρεντερικού της γάτας παραμένει αδιευκρίνιστη. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του βακτηριακού πληθυσμού στο δωδεκαδάκτυλο και της παρουσίας βακτηρίων στη χολή σε γάτες που εμφάνιζαν ΦΝΕ, χολαγγειίτιδα, παγκρεατίτιδα ή συνδυασμό αυτών, συμπεριλαμβανομένης της νοσολογικής οντότητας της τριαδίτιδας (ΦΝΕ, χολαγγειίτιδα και παγκρεατίτιδα), ή εμφάνιζαν εντερικό λέμφωμα και αξιολόγηση σε σύγκριση με φυσιολογικές γάτες. Η παρούσα μελέτη αποτελεί συνέχεια προηγούμενων μελέτης της κλινικο-εργαστηριακής και ιστοπαθολογικής εικόνας του συμπλέγματος της τριαδίτιδας της γάτας,<sup>16</sup> στα πλαίσια της διερεύνησης της αιτιοπαθογένειας των

φλεγμονωδών νοσημάτων του γαστρεντερικού.

## > Υλικά και Μέθοδοι

### - Σχεδιασμός της μελέτης

Στην προοπτική αυτή μελέτη περιλήφθηκαν γάτες οι οποίες προσκομίστηκαν από τους ιδιοκτήτες τους και εξετάστηκαν στην Μονάδα Παθολογίας, της Κλινικής των Ζώων Συντροφιάς, του Τμήματος Κτηνιατρικής, του Α.Π.Θ. (Φεβρουάριος 2008-Φεβρουάριος 2011). Το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από το Τμήμα Κτηνιατρικής (Έγκριση κλινικής έρευνας: Συνεδρίαση της Γ.Σ.Ε.Σ. του Τμήματος Κτηνιατρικής αριθ. 430/20-11-2007) και από αρμόδιο κρατικό φορέα (Έγκριση κλινικής έρευνας: Διεύθυνση Κτηνιατρική Θεσσαλονίκης, αρ. πρωτ. 13/3657/29.03.2010). Καμία ενέργεια δεν πραγματοποιήθηκε στις γάτες χωρίς την έγγραφη συγκατάθεση των ιδιοκτητών τους. Για τους σκοπούς της μελέτης εξετάστηκαν δυο κατηγορίες γατών: γάτες συμπτωματικές, οι οποίες προσκομίστηκαν στην Κλινική Ζώων Συντροφιάς με χρόνια συμπτωματολογία η οποία θα μπορούσε να παραπέμψει σε φλεγμονώδη νοσήματα του γαστρεντερικού, συμπεριλαμβανομένης της τριαδίτιδας ή εντερικό λέμφωμα (συγκεκριμένα παρουσίαζαν σταθερά ή με διαλείπουσα συχνότητα ένα ή συνδυασμό των παρακάτω συμπτωμάτων: μείωση της διάθεσης, αύξηση ή μείωση της όρεξης, έμετος, διαταραχή της σύστασης των κοπράνων, ίκτερος, απώλεια σωματικού βάρους), καθώς και ασυμπτωματικές γάτες που προσκομίστηκαν με σκοπό την ωθηκαστερεκτομή τους. Τουλάχιστον 2 εβδομάδες πριν από τη διερεύνησή τους, όλες οι κλινικά υγιείς γάτες εισάγονταν σε ξεχωριστή πτέρυγα του Νοσηλευτηρίου της Μονάδας Παθολογίας της Κλινικής των Ζώων Συντροφιάς με σκοπό την προσαρμογή τους στο χώρο, την αποκλειστική διατροφή τους με βιομηχανοποιημένη ξηρά τροφή υψηλής ποιότητας (βασική σύνθεση: 33,8-34,2% πρωτεΐνη, 21,9-22,3% λίπος, 36,9-38,1% υδρογονάνθρακες, 1,1-1,3%, ίνες και 0,80-0,88% ασβέστιο σε ξηρή ουσία) (Feline Adult Optimal Care™ Chicken-Dry, Science Plan™, Hill's™) την παρακολούθησή τους και τη διενέργεια εργαστηριακών εξετάσεων.

Η επιλογή των γατών της μελέτης έγινε με βάση τα παρακάτω κριτήρια ένταξης: (1) ηλικία άνω του έτους και των δύο φύλων που ανήκαν σε διάφορες φυλές, (2) διατροφή με βιομηχανοποιημένη τροφή για γάτες (ξηρά ή/και κονσερβοποιημένη) τουλάχιστον για τις τελευταίες 8 εβδομάδες πριν την αρχική εξέταση, (3) έγγραφη συναίνεση των ιδιοκτητών για την διενέργεια ερευνητικής λαπαροτομής, βιοψίας και τη λήψη βιολογικών υλικών, (4) ιστοπαθολογικά ευρήματα φλεγμονής (εντερίτιδας, χολαγγειίτιδας, παγκρεατίτιδας ή συνδυασμών αυτών) ή εντερικού λεμφώματος με ή χωρίς την ταυτόχρονη παρουσία συμπτωμάτων την στιγμή της εξέτασης (ομάδα προς διερεύνηση) ή την διαπίστωση φυσιολογικών ιστοπαθολογικών και κλινικών ευρημάτων (ομάδα φυσιολογικών μαρτύ-



**Πίνακας 1.** Οι ομάδες των γατών της έρευνας

Ομάδα	Αριθμός γατών
M	8
X	6
ΦNE	13
ΦNE+X	15
ΦNE+X+Π	8
Π	1
ΦNE+Π	2
Λ	4
<b>Σύνολο</b>	<b>57</b>

M: μάρτυρες

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας

ΦNE: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου

ΦNE+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας

ΦNE+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας

ΦNE+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας

Λ: γάτες με ευρήματα εντερικού λεμφώματος

ρων).

Τα κριτήρια αποκλεισμού των γατών από την μελέτη ήταν τα παρακάτω: (1) παρουσία κλινικών ή εργαστηριακών ευρημάτων άλλων νοσολογικών καταστάσεων, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν το ήπαρ, το πάγκρεας ή το λεπτό έντερο, (2) διαπίστωση άλλων ιστοπαθολογικών ευρημάτων πέραν των καθορισμένων του ήπατος, του παγκρέατος και του λεπτού εντέρου υπό διερεύνηση για το σκοπό της μελέτης, (3) θετικά αποτελέσματα παρασιτολογικής εξέτασης κοπράνων, (4) θετικά αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων ανίχνευσης αντισωμάτων κατά του ιού της ανοσοανεπάρκειας της γάτας (FIV), αντιγόνου του ιού της λευχαιμίας της γάτας (FeLV) και αντισωμάτων κατά του κορωνοϊού (FCoV) και της λοιμώδους περιτονίτιδας της γάτας (FIP), (5) παθολογικά αποτελέσματα της συγκέντρωσης της ολικής ή της ελεύθερης θυροξίνης στον ορό αίματος (T4, Free T4), (6) λήψη φαρμακευτικών ουσιών, όπως αντιμικροβιακών, αντιφλεγμονωδών ή ανοσοκατασταλτικών, τουλάχιστον για το διάστημα των δύο τελευταίων εβδομάδων πριν από την εξέταση.

**Συμπτωματικές γάτες:** Κατά τη διάρκεια της μελέτης, εξετάστηκαν 302 γάτες με κλινικά συμπτώματα, από τις οποίες 82 πληρούσαν τα κλινικά κριτήρια ένταξης. Με βάση τη συγκατάθεση των ιδιοκτητών για τη διενέργεια βιοψιών, 39 γάτες διερευνήθηκαν πλήρως, από τις οποίες 25 γάτες εντάχθηκαν στη μελέτη με βάση τα καθορισμένα κριτήρια.

**Ασυμπτωματικές γάτες:** Κατά την ίδια περίοδο, 39 γάτες χωρίς κλινικά συμπτώματα διερευνήθηκαν πλήρως, ακολουθώντας το ίδιο διαγνωστικό πρωτόκολλο με τις συμπτωματικές γάτες. Μετά την ολοκλήρωση της ιστοπαθολογικής εξέτασης, 11 γάτες αποκλείστηκαν λόγω των καθορισμένων κριτηρίων, 8 βρέθηκαν φυσιολογικές, ενώ σε 20 γάτες αποκαλύφθηκαν ιστοπαθολογικά ευρήματα φλεγμονής στα υπό εξέταση όργανα.

Μετά την ολοκλήρωση των ιστοπαθολογικών εξετάσεων όλες οι γά-

τες με ευρήματα φλεγμονής στο έντερο, το ήπαρ, το πάγκρεας, ανεξάρτητα με την παρουσία ή την απουσία συμπτωμάτων τη στιγμή της δειγματοληψίας, καθώς και οι γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου συμπεριλήφθηκαν στην ομάδα των γατών με παθολογικά ευρήματα προς διερεύνηση. Οι ασυμπτωματικές γάτες, με φυσιολογικά ευρήματα στις ιστοπαθολογικές εξετάσεις του ήπατος, του παγκρέατος και του εντέρου αποτέλεσαν την ομάδα των φυσιολογικών μαρτύρων.

Έτσι, στην έρευνά μας συμπεριλήφθηκαν συνολικά 57 γάτες: 49 γάτες με παθολογικά ευρήματα (45 γάτες με ιστοπαθολογικά ευρήματα διάφορων συνδυασμών ΦNE, χολαγγειίτιδας, παγκρεατίτιδας, 4 με εντερικό λέμφωμα) και 8 φυσιολογικοί μάρτυρες.

## - Ομάδες των γατών της έρευνας

Με κριτήριο τα αποτελέσματα της ιστοπαθολογικής εξέτασης, οι γάτες της έρευνας χωρίστηκαν σε 8 ομάδες, οι οποίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Σε μία γάτα με χολαγγειίτιδα, μία γάτα με ΦNE και χολαγγειίτιδα, δυο γάτες με συνύπαρξη ΦNE, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας, δυο γάτες με ΦNE και παγκρεατίτιδα, τρεις γάτες με ΦNE και σε μία γάτα με λέμφωμα δεν λήφθηκε σπός δωδ/λου για ανάλυση.

## - Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ομάδων

**ΦNE:** Συνολικά, τριάντα οκτώ γάτες εμφάνιζαν ευρήματα λεμφοκυτταρικού/πλασμοκυτταρικού τύπου ΦNE. Στο σύνολο αυτών παρατηρήθηκε διήθηση από λεμφοκύτταρα, πλασμοκύτταρα και μακροφάγα στο βλεννογόνο του εντέρου, ενώ κάποια ουδετερόφιλα παρατηρήθηκαν σε ποικίλους αριθμούς και σπανιότερα, περιστασιακά εωσινόφιλα. Οι διηθήσεις, σε συνδυασμό με αρχιτεκτονικές βλάβες στο επιθήλιο του εντέρου, εκτεινόταν σε όλο το μήκος του (δωδεκαδάκτυλο, νήστιδα, ειλεό) με ποικίλη ένταση.

**Χολαγγειίτιδα:** Είκοσι εννέα γάτες εμφάνιζαν ιστοπαθολογικά ευρήματα χολαγγειίτιδας. Οι αλλοιώσεις χαρακτηρίζονταν στην πλειοψηφία τους από διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από λεμφοκύτταρα κατά κύριο λόγο και σε πολύ μικρότερο βαθμό από πλασμοκύτταρα, ίνωση και υπερπλασία των χοληφόρων πόρων (λεμφοκυτταρικού τύπου χολαγγειίτιδα). Σε μικρό αριθμό γατών (5/29), παρατηρήθηκε παράλληλα παρουσία και ουδετερόφιλων κυττάρων (χρόνια ουδετεροφιλική χολαγγειίτιδα).

**Παγκρεατίτιδα:** Έντεκα γάτες εμφάνιζαν αλλοιώσεις χρόνιας παγκρεατίτιδας, με διήθηση από μονοκύτταρα και ίνωση. Σε πέντε από αυτές, παρατηρήθηκε παράλληλα και σημαντικός αριθμός ουδετερόφιλων κυττάρων (οι τρεις περιπτώσεις χαρακτηρίστηκαν ως χρόνια ενεργός παγκρεατίτιδα και οι δυο, όπου παρατηρήθηκαν και νεκρωτικές εστίες, ως οξεία νεκρωτική παγκρεατίτιδα σε συνδυασμό με χρόνια).

**Λέμφωμα:** Τέσσερις γάτες εμφάνιζαν αλλοιώσεις συμβατές με εντερικό λέμφωμα. Χαρακτηρίζονταν από διάχυτη συνάθροιση μονομορφικού πληθυσμού λεμφοκυττάρων στο χόριο του βλεννογόνου και στον υποβλεννογόνο χιτώνα με πολυεστιακές διηθήσεις στις μυϊκές στιβάδες, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις και ενδοεπιθηλιακά. Δεν παρατηρήθηκαν, παρά ελάχιστα, από τους άλλους τύπους φλεγμονικών κυττάρων, ενώ παρατηρήθηκαν μικρο-διαβρώσεις και διαβρώσεις του επιθηλίου της επιφάνειας. Σε μια γάτα παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός λεμφοκυττάρων στο χόριο.

## - Κλινική και Διαγνωστικές εξετάσεις

Στο σύνολο των 57 γατών που συμμετείχαν στην έρευνα προηγήθηκε η λήψη ιστορικού και η γενική κλινική εξέταση. Οι διαγνωστικές εξε-



τάσεις (<3 ημέρες πριν την ερευνητική λαπαροτομή) για τις 57 γάτες περιελάμβαναν την παρασιτολογική εξέταση κοπράνων και την ανίχνευση αντιγόνου *Giardia* spp., γενική εξέταση ούρου, γενική εξέταση αίματος, προσδιορισμό βιοχημικών παραμέτρων σε ορό αίματος: λευκωματίνες (ALB), άζωτο ουρίας (BUN), κρεατινίνη (CREA), αλκαλική φωσφατάση (ALP), αλανινοαμινοτρανσφεράση (ALT), γ-γλουταμινική τρανσφεράση (γGT), ασπαραγινοαμινοτρανσφεράση (AST), ολική (TBIL), λιπάση, ιονισμένο ασβέστιο (Ca), φώσφορος (P), κάλιο (K), νάτριο (Na), έλεγχο της ηπικτικότητας του αίματος με προσδιορισμό των χρόνων προθρομβίνης (PT) και μερικής θρομβοπλαστίνης (PTT) (52/57), προσδιορισμό της τιμής της θυροξίνης (T4) και της ελεύθερης θυροξίνης (Free T4), προσδιορισμό της δραστηριότητας στον ορό της ειδικής παγκρεατικής λιπάσης (fPLI με τη μέτρηση της Spec fPLI<sup>®</sup>)<sup>17</sup> (56/57) και της συγκέντρωσης της θρυψίνης και του θρυψινογόνου μέσω ανοσοαντίδρασης (fTLI) και έλεγχο των ιογενών νοσημάτων FIV, FeLV, και του κορωνοϊού FIP. Στις απεικονιστικές εξετάσεις περιλαμβάνονταν ακτινογραφίες θώρακος και κοιλίας, (49/57) και υπερηχογράφημα κοιλίας (56/57). Η ιστοπαθολογική διάγνωση τέθηκε μετά από λήψη ιστοτεμαχίων ολικού πάχους (τουλάχιστον 5 από κάθε γάτα: ένα από το ήπαρ, το πάγκρεας, το δωδεκαδάκτυλο, τη νήστιδα και τον ειλέο) κατά τη διάρκεια ανοιχτής λαπαροτομής και την “τυφλή” εξέτασή τους από εξειδικευμένο κτηνίατρο παθολογοανατόμο (Θ.Π.), βάση των διεθνών αποδεκτών ιστοπαθολογικών κριτηρίων.<sup>18-20</sup>

## - Λήψη δείγματος εντερικού περιεχομένου και χολής

Πριν από τη βιοψία του εντέρου, λαμβανόταν δείγμα οπού από το δωδεκαδάκτυλο. Για τον σκοπό αυτό, εντοπιζόταν το δωδεκαδάκτυλο και με “άμελξη” σε όλο το μήκος συλλέγονταν στο μέσο του αυλού του το υγρό που υπήρχε σε αυτό. Η αναρρόφηση του οπού γινόταν με πλαστικό ενδοφλέβιο καθετήρα (Abbotcath-T I.V. Catheter 20 G x 1,25», Venisystems™, Abbott, Ireland) προσαρμοσμένο σε σύριγγα 20 ml.<sup>15</sup> Το δείγμα του δωδεκαδακτυλικού οπού μεταγγιζόταν άμεσα σε αποστειρωμένο, κενού αέρος, χωρίς αντιπηκτικό, γυάλινο φιαλίδιο συλλογής αίματος.

Κατά τη διάρκεια της ανοιχτής λαπαροτομής λαμβάνονταν δείγμα χολής από τη χοληδόχο κύστη σε ποσότητα 1 ml, με τη χρήση αποστειρωμένης σύριγγας 1 ml και βελόνας διαμέτρου 25 G. Σε περιπτώσεις αδυναμίας αναρρόφησης της χολής (π.χ. αυξημένο ιξώδες) χρησιμοποιούνταν βελόνα μεγαλύτερης διαμέτρου (23-21 G). Τα δείγματα μεταγγιζόταν άμεσα σε γυάλινο, αποστειρωμένο, κενού αέρος, χωρίς αντιπηκτικό φιαλίδιο συλλογής αίματος (Venoject®, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium).

Τα φιαλίδια χολής και εντερικού οπού τοποθετούνταν άμεσα σε ψυγείο μεταφοράς (θερμοκρασία 4-6 °C) και μέσα σε 1 ώρα από τη δειγματοληψία μεταφέρονταν στο μικροβιολογικό εργαστήριο, όπου ενοφθαλμιζόνταν σε κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα υπό ειδικές αερόβιες, μικροαερόφιλες και αναερόβιες συνθήκες, με στόχο την ανάπτυξη των βακτηρίων που περιείχαν.

## - Καλλιέργεια οπού δωδεκαδακτύλου και χολής

### Απομόνωση και καταμέτρηση των βακτηρίων

Για την απομόνωση και καταμέτρηση των βακτηρίων όπως και την ταυτοποίησή τους ακολουθήθηκαν κλασικές μικροβιολογικές μέθοδοι.<sup>21</sup> Για την απομόνωση αερόβιων και προαιρετικά αναερόβιων βακτηρίων, όπως των *Enterobacteriaceae* spp., *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. και

*Pseudomonas* spp., χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα Blood Agar, MacConkey Agar, Rogosa Agar και Bile Esculin Agar. Για την απομόνωση αναερόβιων βακτηρίων, όπως των *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp. και *Eubacterium* spp., χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα: Anaerobic Agar acc. to Brewer και TSC-Agar (Tryptose Sulfite Cycloserine Agar, Perfringens Agar). Για την απομόνωση μικροαερόφιλων βακτηριακών στελεχών, όπως εκείνων των *Campylobacter* spp., χρησιμοποιήθηκε το ειδικό υπόστρωμα *Campylobacter* Selective Agar.

Για την εκτίμηση του βακτηριακού πληθυσμού των δειγμάτων ακολουθήθηκε η τεχνική των διαδοχικών υποδεκαπλάσιων αραιώσεων αυτών (10<sup>-1</sup> έως 10<sup>-6</sup>) και ο ενοφθαλμισμός της κάθε αραιώσης σε τρυβλία με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης (spread plate method). Από την κάθε αραιώση ενοφθαλμιζόνταν συνήθως δύο τρυβλία για κάθε θρεπτικό υπόστρωμα. Τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C σε αερόβιες, αναερόβιες και μικροαερόφιλες συνθήκες, ανάλογα με το υπόστρωμα που ενοφθαλμιζόταν. Για την επώαση σε αναερόβιες συνθήκες χρησιμοποιήθηκαν ειδικοί για το σκοπό αυτό περιέκτες (GasPak™ EZ Anaerobe Pouch System, Anaerobe Gas Generating pouch system with indicator, Becton Dickinson, NJ, USA), όπως και για την επώαση μικροαερόφιλων βακτηρίων (GasPak™ Campy Pouch System, BBL™ Microaerophilic Campy pouch system, Becton Dickinson, NJ, USA). Τα τρυβλία υποστρωμάτων ελέγχονταν καθημερινά για την παρουσία βακτηριακής ανάπτυξης μέχρι 48 ώρες για τις αερόβιες καλλιέργειες και μέχρι 6 ημέρες για τις αναερόβιες και μικροαερόφιλες καλλιέργειες.

Για τον υπολογισμό του πληθυσμού των βακτηρίων γινόταν καταμέτρηση των αποικιών αυτών που αναπτύχθηκαν σε αερόβιες, αναερόβιες και μικροαερόφιλες συνθήκες λαμβάνοντας υπόψη τα τρυβλία που περιείχαν 30-300 αποικίες. Απαριθμούνταν το σύνολο των ορατών αποικιών και των δύο τρυβλίων που είχαν ενοφθαλμιστεί από κάθε αραιώση και υπολογιζόταν ο μέσος όρος των δύο τρυβλίων. Ο αριθμός των βακτηρίων ικανών να σχηματίσουν αποικίες, εκφραζόταν τελικά ανά 1 ml αρχικού δείγματος (colony forming units, cfu/ml).

### Ταυτοποίηση των βακτηρίων

Για την ταυτοποίηση των βακτηριακών στελεχών εκτιμήθηκαν τα εξής: (1) η ανάπτυξη στα ειδικά υποστρώματα απομόνωσης-ταυτοποίησης βακτηρίων [(i) Bile Esculin agar (BBL™ Bile Esculin Agar, Becton Dickinson, Maryland, USA): για την απομόνωση των *Enterococcus* spp. και τη διάκρισή τους από τα *Streptococcus* spp. (ii) *Campylobacter* Selective agar: για την απομόνωση των *Campylobacter* spp. (iii) TSC agar: για την απομόνωση των *Clostridium* spp. (iv) Rogosa agar: για την απομόνωση *Lactobacilli* (v) Anaerobic agar acc. to Brewer: για την απομόνωση *Clostridium* spp. και άλλων αναερόβιων ή μικροαερόφιλων βακτηρίων.] (2) τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των βακτηρίων μετά από χρώση (Gram stain). (3) τα αρχικά βιοχημικά χαρακτηριστικά: δοκιμή καταλάσης, δοκιμή οξειδάσης, ανάπτυξη ή όχι σε MacConkey άγαρ, δοκιμή ινδόλης, αναγωγή των νιτρικών αλάτων, παραγωγή λεκιθινάσης, παραγωγή λιπάσης. (4) η ευαισθησία ή όχι στο αντιμικροβιακό βανκομυκίνη, ως επιπρόσθετη μέθοδος πέρα από την Gram χρώση, για το διαχωρισμό μεταξύ Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων. (5) για την περαιτέρω ταυτοποίηση των *Enterobacteriaceae* spp. χρησιμοποιήθηκε το σύστημα API 20 E (API® bioMérieux Inc., Durham NC, USA).

## > Στατιστική ανάλυση

Με βάση την ιστοπαθολογική τους διάγνωση, οι γάτες της μελέτης

**Πίνακας 2.** Ανάπτυξη των αερόβιων ειδών βακτηρίων (αριθμός καλλιιεργειών στις οποίες αναπτύχθηκαν τα συγκεκριμένα είδη) στις καλλιέργειες οπού δωδεκαδακτύλου των γατών ανά ομάδα

Αερόβια είδη βακτηρίων	Ομάδες								
	M	X	ΦΝΕ	ΦΝΕ+X	ΦΝΕ+X+Π	Π	ΦΝΕ+Π	Λ	Σύνολο
<i>Escherichia coli</i> *	3	2	4	3	4	0	1	1	18
<i>Staphylococcus</i> spp.*	3	1	1	7	2	0	0	0	14
<i>Enterobacter</i> spp.*	0	0	2	1	1	0	0	1	5
<i>Streptococcus</i> spp.*	1	0	0	2	1	0	0	0	4
<i>Citrobacter</i> spp.*	0	0	2	0	0	0	1	0	3
<i>Enterococcus</i> spp.*	0	0	0	1	0	1	0	0	2
<i>Klebsiella</i> spp.*	0	0	0	0	0	0	0	2	2
<i>Bacillus</i> spp.*	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Proteus</i> spp.*	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Serratia</i> spp.*	0	0	1	0	0	0	0	0	1

\* προαιρετικά αναερόβια είδη βακτηρίων

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=5)

ΦΝΕ: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=10)

ΦΝΕ+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=14)

ΦΝΕ+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=6)

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας (n=1)

ΦΝΕ+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας (n=1)

Λ: γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου (n=3)

χωρίστηκαν σε ομάδες. Αφού έγινε επεξεργασία των δεδομένων ακολούθησαν συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων. Οι γάτες με παγκρεατίτιδα μόνο, με ΦΝΕ σε συνδυασμό με παγκρεατίτιδα και οι γάτες με εντερικό λέμφωμα δεν συμπεριλήφθηκαν σε περαιτέρω στατιστικούς ελέγχους, λόγω του μικρού μεγέθους δείγματος σε αυτές. Για τη συνοπτική παρουσίαση των στατιστικών αποτελεσμάτων υπολογίστηκαν

απόλυτες και σχετικές συχνότητες (ποσοστά %), δείκτες κεντρικής τάσης (μέσοι όροι, διάμεσες τιμές) και δείκτες διασποράς-διακύμανσης [(ελάχιστες (min)-μέγιστες (max) τιμές και τυπικές αποκλίσεις]. Για τις συγκρίσεις μέσω των όρων και διάμεσων τιμών εφαρμόστηκαν οι έλεγχοι Kruskal-Wallis και Mann-Whitney. Για τις συγκρίσεις αναλογικών (ποσοστών %) χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος z (z-test με διόρθωση

**Πίνακας 3.** Ανάπτυξη αναερόβιων ειδών βακτηρίων (αριθμός καλλιιεργειών στις οποίες αναπτύχθηκαν τα συγκεκριμένα είδη) στις καλλιέργειες οπού δωδεκαδακτύλου των γατών ανά ομάδα

Αναερόβια είδη βακτηρίων	Ομάδες								
	M	X	ΦΝΕ	ΦΝΕ+X	ΦΝΕ+X+Π	Π	ΦΝΕ+Π	Λ	Σύνολο
<i>Clostridium</i> spp.	1	2	2	2	4	0	0	1	12
<i>Bacteroides</i> spp.	0	1	0	3	1	0	0	0	5
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0	0	1	3	0	0	1	1	6
<i>Eubacterium</i> spp.	0	0	0	1	0	0	0	0	1

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=5)

ΦΝΕ: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=10)

ΦΝΕ+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=14)

ΦΝΕ+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=6)

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας (n=1)

ΦΝΕ+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας (n=1)

Λ: γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου (n=3)



Bonferroni στο επίπεδο σημαντικότητας). Σε όλους τους στατιστικούς ελέγχους η παρατηρούμενη στάθμη σημαντικότητας (P-value) υπολογίστηκε, κατά περίπτωση, είτε με την Ακριβή Μέθοδο (Exact Method), είτε με τη μέθοδο προσομοίωσης Monte-Carlo βασισμένη σε 10.000 κύκλους επαναδειγματοληψίας.<sup>22</sup> Το επίπεδο σημαντικότητας των στατιστικών ελέγχων προκαθορίστηκε σε  $\alpha=0,05$  ( $P\leq 0,05$ ). Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο IBM SPSS v. 20.0 (USA, Chicago: Illinois) με εγκατεστημένο το υποσύστημα Exact Tests (Statistical pack IBM SPSS v.20.0).

## > Αποτελέσματα

### Βακτηριακός πληθυσμός οπού δωδεκαδακτύλου

Τα αερόβια και αναερόβια είδη των βακτηρίων που απομονώθηκαν κατά την καλλιέργεια του οπού δωδεκαδακτύλου των γατών των ομάδων, περιγράφονται στους Πίνακες 2 και 3. Σε καμία από τις καλλιέργειες οπού των γατών της έρευνας δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροαερόφιλων βακτηρίων του γένους *Campylobacter* spp..

Η ποσοτική εκτίμηση του συνόλου των αερόβιων, των αναερόβιων, καθώς και του συνολικού πληθυσμού των βακτηρίων των καλλιέργειών δωδεκαδακτυλικού οπού των γατών της έρευνας παρουσιάζεται ανά ομάδα στον Πίνακα 4.

Η σύγκριση του βακτηριακού πληθυσμού του δωδεκαδακτύλου των υπό διερεύνηση ομάδων γατών ως προς την ανάπτυξη αερόβιων ( $P=0,831$ ), αναερόβιων ( $P=0,406$ ) και του συνολικού πληθυσμού βακτηρίων ( $P=0,752$ ) δεν ανέδειξε στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Η ποσοτική εκτίμηση των συχνότερων αερόβιων και αναερόβιων ειδών βακτηρίων που αναπτύχθηκαν στις καλλιέργειες δωδεκαδακτυλικού οπού των γατών της έρευνας παρουσιάζεται ανά ομάδα στον Πίνακα 5.

Η σύγκριση του βακτηριακού πληθυσμού του δωδεκαδακτύλου των υπό διερεύνηση ομάδων γατών, ως προς την ανάπτυξη της *Escherichia coli*, που εκτιμήθηκε σε αερόβιες ( $P=0,317$ ) αλλά και σε αναερόβιες συνθήκες ( $P=0,313$ ), καθώς και των *Staphylococcus* spp., τόσο σε αερόβιες ( $P=0,332$ ) όσο και σε αναερόβιες συνθήκες ( $P=0,279$ ), δεν ανέδειξε στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των ομάδων αναδείχθηκαν ως προς την ανάπτυξη των αναερόβιων *Clostridium* spp., όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

### Παρουσία βακτηρίων στη χολή

Η καλλιέργεια της χολής βρέθηκε αρνητική στην ανάπτυξη βακτηρίων σε όλες τις γάτες της ομάδας

**Πίνακας 4.** Εύρος (min,-max), διάμεση τιμή (ΔΤ), μέσος όρος (ΜΟ) και τυπική απόκλιση (ΤΑ) των αερόβιων, αναερόβιων και του συνόλου των ειδών των βακτηρίων (αποικίες ανά χιλιοστόλιτρο, cfu/ml), που αναπτύχθηκαν κατά την καλλιέργεια οπού δωδεκαδακτύλου των γατών ανά ομάδα

Ομάδες		Βακτήρια οπού δωδεκαδακτύλου		
		Αερόβια είδη <sup>1</sup>	Αναερόβια είδη <sup>2</sup>	Σύνολο
<b>M</b>	Εύρος	0-3610	0-400	0-3710
	ΔΤ	180	0	181,5
	ΜΟ	841,2	62,9	904,1
	ΤΑ	1379,7	140,6	1476,5
<b>X</b>	Εύρος	0-4700	0-1200	0-5900
	ΔΤ	320	10	350
	ΜΟ	1072	266	1338
	ΤΑ	2034,8	524,6	2558
<b>ΦNE</b>	Εύρος	0-120000	0-8500	0-128500
	ΔΤ	130	0	160
	ΜΟ	12873	868	13741
	ΤΑ	37683,6	2682,1	40362
<b>ΦNE+X</b>	Εύρος	0-26000	0-1600	0-27600
	ΔΤ	835	14,5	880
	ΜΟ	5526,4	173,5	5699,9
	ΤΑ	9907,8	428,1	10230,6
<b>ΦNE+X+Π</b>	Εύρος	0-430000	0-330000	0-760000
	ΔΤ	935	270	1855
	ΜΟ	72470	55390	127860
	ΤΑ	175157	134532,6	309686,7
<b>Π</b>	Εύρος	1400	8	1408
	ΔΤ	1400	8	1408
	ΜΟ	1400	8	1408
	ΤΑ	-	-	-
<b>ΦNE+Π</b>	Εύρος	3800	600	4400
	ΔΤ	3800	600	4400
	ΜΟ	3800	600	4400
	ΤΑ	-	-	-
<b>Λ</b>	Εύρος	520-180000	0-48	520-180000
	ΔΤ	2740	0	2788
	ΜΟ	61086,7	16	61102,7
	ΤΑ	102987,9	27,7	102974,4

<sup>1</sup> αερόβια και προαιρετικά αναερόβια είδη βακτηρίων

<sup>2</sup> αυστηρά αναερόβια είδη βακτηρίων

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=5)

ΦNE: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=10)

ΦNE+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=14)

ΦNE+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=6)

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας (n=1)

ΦNE+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας (n=1)

Λ: γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου (n=3)



**Πίνακας 5.** Εύρος (min,-max), διάμεση τιμή (ΔΤ), μέσος όρος (ΜΟ) και τυπική απόκλιση (ΤΑ) των συχνότερων ειδών βακτηρίων (αποικίες ανά χιλιοστόλιτρο, cfu/ml), που αναπτύχθηκαν κατά την καλλιέργεια οπού δωδεκαδακτύλου των γατών υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες ανά ομάδα

Ομάδες		Βακτήρια οπού δωδεκαδακτύλου				
		Αερόβιες συνθήκες		Αναερόβιες συνθήκες		
		<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Clostridium</i>
<b>M</b>	Εύρος	0-3500	0-360	0-1100	0-130	0-400
	ΔΤ	0	0	0	0	0
	ΜΟ	756,3	82,5	175	31,3	50
	ΤΑ	1386,5	132,7	380,5	55,1	141,4
<b>ΦΝΕ</b>	Εύρος	0-45000	0-25000	0-7200	0-600	0-8500
	ΔΤ	0	0	0	0	0
	ΜΟ	5041	2500	758,2	60	867
	ΤΑ	14083,3	7905,7	2264,5	189,7	2682,5
<b>X</b>	Εύρος	0-4700	0-320	0-2500	0	0-1200
	ΔΤ	0	0	0	0	0
	ΜΟ	1008	64	534	0	264
	ΤΑ	2069,1	143,1	1101,5	0	525,8
<b>ΦΝΕ+X</b>	Εύρος	0-18000	0-18000	0-1500	0-16000	0-40
	ΔΤ	0	75	0	0	0
	ΜΟ	1302,1	2601,4	120	1284,3	4
	ΤΑ	4806,4	5756,0	400,1	4246,4	11,2
<b>ΦΝΕ+X+Π</b>	Εύρος	0-32000	0-500	0-400000	0-50	0-310000
	ΔΤ	685	0	87	0	270
	ΜΟ	5795	85,5	66929	16	52056,7
	ΤΑ	12852,5	203,1	163171,7	24,8	126367,8
<b>Π</b>	Εύρος	0	0	0	0	0
	ΔΤ	0	0	0	0	0
	ΜΟ	0	0	0	0	0
	ΤΑ	-	-	-	-	-
<b>ΦΝΕ+Π</b>	Εύρος	2200	0	700	0	0
	ΔΤ	2200	0	700	0	0
	ΜΟ	2200	0	700	0	0
	ΤΑ	-	-	-	-	-
<b>Λ</b>	Εύρος	0-2600	0	0-52	0	0-220
	ΔΤ	0	0	0	0	0
	ΜΟ	866,7	0	17,3	0	73,3
	ΤΑ	1501,1	-	30	-	127

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=5)

ΦΝΕ: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=10)

ΦΝΕ+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=14)

ΦΝΕ+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=6)

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας (n=1)

ΦΝΕ+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας (n=1)

Λ: γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου (n=3)



**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα των συγκρίσεων των διάμεσων τιμών (ΔΤ) των ειδών των βακτηρίων (αποικίες ανά χιλιοστόλιτρο, cfu/ml), που αναπτύχθηκαν κατά την καλλιέργεια σπουδωδεκαδακτύλου των γατών, ανά ομάδα

Ομάδες	Αναερόβια <i>Clostridium spp</i> (cfu/ml)
M	0 <sup>a</sup>
X	0 <sup>a</sup>
ΦΝΕ	0 <sup>a</sup>
ΦΝΕ+Χ	0 <sup>a</sup>
ΦΝΕ+Χ+Π	270 <sup>b</sup>
ΜΠΣΣΔ <sub>0,05</sub>	270
Kruskal-Wallis P	0,05

ΜΠΣΣΔ: Μικρότερη Παρατηρούμενη Στατιστικώς Σημαντική Διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας α=0,05

a, b: Στην ίδια στήλη του πίνακα διάμεσες τιμές που ακολουθούνται από τουλάχιστον ένα ίδιο γράμμα (εκθέτη) δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με τα αποτελέσματα μίας σειράς ελέγχων Mann-Whitney. Στατιστικώς σημαντική διαφορά υπάρχει μεταξύ των διάμεσων τιμών με διαφορετικό γράμμα εκθέτη.

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=5)

ΦΝΕ: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=10)

ΦΝΕ+Χ: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=14)

ΦΝΕ+Χ+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=6)

των μαρτύρων. Από τις ομάδες των γατών με παθολογικά ευρήματα, θετική βρέθηκε μόνο μία καλλιέργεια χολής από την ομάδα ΦΝΕ+Π, στην οποία αναπτύχθηκε το βακτήριο *Enterobacter cloacae*. (Πίνακας 7).

## > Συζήτηση

Στην έρευνά μας παρατηρήθηκε μεγάλη διακύμανση στους πληθυσμούς των βακτηρίων του δωδεκαδακτύλου των γατών όλων των ομάδων. Ωστόσο, κατά τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο στον συνολικό πληθυσμό των βακτηρίων, όσο και στα υποσύνολα των αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων του δωδεκαδακτύλου ανάμεσα στις φυσιολογικές (ομάδα M) και στις γάτες με παθολογικά ευρήματα όλων των ομάδων (ΦΝΕ, Χ, ΦΝΕ+Χ, ΦΝΕ+Χ+Π, Πίνακες 4, 5 & 6). Εξετάζοντας τα αποτελέσματά μας και σε σχέση με τις βιβλιογραφικές αναφορές στη φυσιολογική χλωρίδα της γάτας, δεν διαπιστώνεται παρουσία εντερικής βακτηριακής υπερανάπτυξης στις γάτες της έρευνάς μας. Στην ομάδα των μαρτύρων της έρευνάς μας ο πληθυσμός των βακτηρίων του δωδεκαδακτύλου κυμάνθηκε από 0 έως 3,7x10<sup>3</sup> cfu/ml (μ.ο. 9x10<sup>2</sup>). Από τις ομάδες των ασθενών γατών, οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί βακτηρίων παρατηρήθηκαν στην ομάδα με την τριαδίτιδα (ΦΝΕ+Χ+Π, Πίνακας 4), όπου το εύρος τιμών κυμάνθηκε από 0 έως 7,6x10<sup>5</sup> cfu/ml (μ.ο. 1,2x10<sup>5</sup>).

Τόσο οι μέσοι όροι, όσο και οι μέγιστες τιμές των βακτηρίων που παρατηρήθηκαν σε όλες τις ομάδες, ήταν εντός του εύρους τιμών που

έχουν περιγραφεί στη φυσιολογική χλωρίδα της γάτας (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> cfu/ml).<sup>2,14,15</sup> Ωστόσο, στην έρευνά μας διαπιστώθηκε αυξημένη παρουσία των αναερόβιων ειδών του γένους *Clostridium* στις γάτες της ομάδας της τριαδίτιδας (ΦΝΕ+Χ+Π, Πίνακας 5) σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες των γατών. Τα *Clostridium spp.* (φύλο *Firmicutes*, οικογένεια *Clostridiaceae*, με τουλάχιστον 70 διαφορετικά είδη) απαρτίζουν κυρίως τη χλωρίδα του κόλου, ωστόσο απαντούν και σε άλλα τμήματα του εντέρου επιτελώντας διαφορετικές λειτουργίες.<sup>5</sup> Αν και αναερόβια, λοιπόν, αποτελούν μέρος της χλωρίδας του λεπτού εντέρου της υγιούς γάτας.<sup>2,15</sup>

Η αιτιοπαθογενετική σχέση μεταξύ των διαταραχών της χλωρίδας και πρόκλησης φλεγμονής δεν έχει αποσαφηνιστεί.<sup>1</sup> Ως συχνές διαταραχές έχουν αναφερθεί η αύξηση πολλών βακτηριακών ειδών που ανήκουν στα *Proteobacteria*, όπως η *Escherichia coli*, και η ελάττωση των *Firmicutes* και ιδιαίτερα της ποικιλότητας ορισμένων *Clostridium spp.*<sup>1,10-13</sup> Σε σκύλους με ΦΝΕ έχει παρατηρηθεί μείωση της ποικιλότητας των βακτηρίων της χλωρίδας του λεπτού εντέρου.<sup>23</sup> Έρευνα σε γάτες με ΦΝΕ απέδειξε την ύπαρξη «εντερικής δυσβίωσης» στις ασθενείς γάτες, με τα *Enterobacteriaceae spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* και *Streptococcus spp.* να αντιστοιχούν στο 91% των προσκολλημένων στον εντερικό βλεννογόνο βακτηρίων και την *Escherichia coli* να αντιστοιχεί στο 30% των *Enterobacteriaceae spp.*<sup>8</sup> Άλλη έρευνα έδειξε την επικράτηση ειδών του γένους *Desulfovibrio* στη χλωρίδα γατών με ΦΝΕ, ενώ είδη των γενών *Bifidobacterium* και *Bacteroides* επικρατούσαν στο βακτηριακό πληθυσμό των υγιών γατών.<sup>7</sup> Στη δική μας έρευνα εν πρώτοις, φαίνεται παράδοξο το γεγονός ότι ενώ στις γάτες της ομάδας τριαδίτιδας (ΦΝΕ+Χ+Π, Πίνακας 5) βρέθηκε αυξημένος πληθυσμός *Clostridium spp.* στο δωδεκαδάκτυλο, στις άλλες ομάδες δεν παρατηρήθηκε κάτι ανάλογο. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την πολυπλοκότητα της αιτιοπαθογενετικής σχέσης μεταξύ των τριών νοσολογικών καταστάσεων, αλλά και την "τοποθέτηση" της συνύπαρξής τους εξελικτικά σε πιο προχωρημένα στάδια σε σχέση με τους συνδυασμούς τους ανά δύο. Ευαίσθητες μοριακές μέθοδοι είναι δυνατό να δώσουν, στο μέλλον, απαντήσεις σχετικά με τον αυξημένο αριθμό των *Clostridium spp.* που διαπιστώθηκε στη δική μας μελέτη, και την πιθανή ποικιλότητα και συμβολή τους στην αιτιοπαθογένεια της τριαδίτιδας.

Σε ότι αφορά στη μικροβιολογική εξέταση της χολής, σε επίπεδα διάγνωσης περιπτώσεων χολαγγειίτιδας, αυτή συνήθως περιλαμβάνει καλλιέργεια σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες καθώς και αντιβιογράμματα για την ανάδειξη του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος.<sup>24-27</sup> Η καλλιέργεια της χολής συγκριτικά με την καλλιέργεια βιοψιών ηπατικού ιστού ή τοιχώματος της χοληδόχου κύστης, υπερτερεί ως προς την πιθανότητα ανάπτυξης μικροοργανισμών.<sup>28</sup> Παρά την επικρατούσα άποψη ότι η χολή στις υγιείς γάτες είναι στείρα,<sup>25,29</sup> κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι μετακίνηση βακτηρίων από το δωδεκαδάκτυλο προς τη χολή μπορεί να συμβαίνει και σε υγιείς γάτες.<sup>28</sup> Στη δική μας έρευνα ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε ανάπτυξη βακτηρίων στην καλλιέργεια της χολής στους υγιείς μάρτυρες.

Σε ό,τι αφορά στα είδη της χολαγγειίτιδας στη γάτα, στην οξεία ουδετεροφιλική χολαγγειίτιδα, η απομόνωση από τη χολή κυρίως *Enterobacteriaceae spp.* της χλωρίδας του δωδεκαδακτύλου, είναι συχνή και επιβεβαιώνει τη διάγνωση.<sup>24,25,28,30-35</sup> Η μετακίνηση βακτηρίων από τον εντερικό σωλήνα στη χοληδόχο κύστη μπορεί να γίνει είτε με την παλινδρόμηση χολής από το δωδεκαδάκτυλο, είτε μέσω της αιματικής ή λεμφικής κυκλοφορίας.<sup>25</sup> Υποστηρίζεται ότι η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και η παγκρεατίτιδα προδιαθέτουν σε χολόσταση, με συνέπεια την παλινδρόμηση παγκρεατικών εκκρίσεων ή και βακτηρίων προς το ήπαρ.<sup>32,36</sup> Στο χρόνια ουδετεροφιλικό τύπο της χο-



**Πίνακας 7.** Κατανομή (n, %) των θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων της καλλιέργειας της χολής των γατών ανά ομάδα

Ομάδες		Καλλιέργεια χολής	
		Αρνητική	Θετική
M	αριθμός	8	0
	%	100%	0%
X	αριθμός	6	0
	%	100%	0%
ΦNE	αριθμός	13	0
	%	100%	0%
ΦNE+X	αριθμός	15	0
	%	100%	0%
ΦNE+X+Π	αριθμός	8	0
	%	100%	0%
Π	αριθμός	1	0
	%	100%	0%
ΦNE+Π	αριθμός	1	1
	%	50%	50%
Λ	αριθμός	4	0
	%	100%	0%
Σύνολο	αριθμός	56	1
	%	98,2%	1,8%

M: μάρτυρες (n=8)

X: γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας (n=6)

ΦNE: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (n=13)

ΦNE+X: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και χολαγγειίτιδας (n=15)

ΦNE+X+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, χολαγγειίτιδας και παγκρεατίτιδας (n=8)

Π: γάτες με ευρήματα παγκρεατίτιδας (n=1)

ΦNE+Π: γάτες με ευρήματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και παγκρεατίτιδας (n=2)

Λ: γάτες με λέμφωμα του λεπτού εντέρου (n=4)

λαγγειίτιδας, στις περισσότερες των περιπτώσεων, η καλλιέργεια της χολής είναι αρνητική. Πιστεύεται, ότι αυτό συμβαίνει i) είτε λόγω των βακτηριοστατικών ιδιοτήτων της χολής, ii) είτε διότι η αρχική εισβολή των βακτηρίων έχει περιοριστεί από το αμυντικό σύστημα του οργανισμού, iii) είτε, εξαιτίας προηγούμενης χορήγησης αντιμικροβιακών, και iv) στις περιπτώσεις που τα βακτήρια δεν αποτελούν άμεσα την αιτία της φλεγμονώδους κατάστασης.<sup>24,37-39</sup> Ωστόσο, ακόμη και στις χρόνιες μη βακτηριολογικής αιτιολογίας περιπτώσεις χολαγγειίτιδας, η χρόνια διήθηση των χολαγγείων από φλεγμονώδη κύτταρα καθιστά ευάλωτο το ήπαρ σε δευτερογενείς μολύνσεις από

*Enterobacteriaceae* spp., όπως η *Escherichia coli*.<sup>26</sup>

Στον λεμφοκυτταρικό τύπο της χολαγγειίτιδας φαίνεται να εμπλέκεται ένας ανοσολογικός φύσεως αιτιοπαθογενετικός μηχανισμός.<sup>40-42</sup> Ωστόσο, εκφράζεται και η άποψη ότι ο συγκεκριμένος τύπος χολαγγειίτιδας αντιπροσωπεύει τη χρόνια εξέλιξη της οξείας ουδετεροφιλικής χολαγγειίτιδας ή μιας ανιούσας (από το δωδεκαδάκτυλο) βακτηριακής μόλυνσης.<sup>31,37,38</sup> Τα δεδομένα στα οποία μπορεί να στηριχθεί η υπόθεση μιας πρωτογενούς μικροβιακής λοίμωξης είναι λίγα.<sup>42</sup> Υπάρχουν δύο έρευνες που αφορούν σε μικρή ομάδα γατών με σύνδρομο χολαγγειίτιδας/χολαγγειοηπατίτιδας στις οποίες ανιχνεύτηκε DNA βακτηρίων του γένους *Helicobacter*, χωρίς ωστόσο να είναι ξεκάθαρη η παθοφυσιολογική σημασία του ευρήματος αυτού.<sup>43,44</sup> Σημειώνεται ότι μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν στοιχεία που να συσχετίζουν την παρουσία *Helicobacter* spp. με τη ΦNE και την παγκρεατίτιδα στην γάτα.<sup>8,45</sup> Επίσης, σε μια πειραματική μελέτη περιγράφεται η πρόκληση μέτριας έντασης φλεγμονής στη ζώνη 1 του ήπατος γατών, μετά από μόλυνση με *Bartonella* spp..<sup>46</sup> Παρότι οι ενδείξεις εμπλοκής ενός ανοσολογικού μηχανισμού στην πρόκληση της χολαγγειίτιδας είναι αρκετές, η αιτιοπαθογένεια της νόσου παραμένει αινιγματική.<sup>42</sup>

Τα αποτελέσματα της δικής μας έρευνας δεν συμφωνούν με την υπόθεση της πρωτογενούς μικροβιακής λοίμωξης, μιας και στο σύνολό τους τα δείγματα χολής των γατών με χολαγγειίτιδα βρέθηκαν στείρα βακτηρίων. Από τις γάτες χωρίς ευρήματα χολαγγειίτιδας, ένα μόνο δείγμα χολής βρέθηκε θετικό με ανάπτυξη του βακτηρίου *Enterobacter cloacae*. Πρόκειται για μια γάτα η οποία εμφάνιζε παγκρεατίτιδα και ΦNE (Πίνακας 7, ομάδα ΦNE+Π) παράλληλα με χολόσταση, χωρίς να εμφανίζει ιστοπαθολογικά ευρήματα χολαγγειίτιδας, ούτε λιπώδους εκφύλισης. Όπως προαναφέρθηκε, η χολόσταση, που στη συγκεκριμένη περίπτωση οφειλόταν στην παρεμπόδιση της παροχέτευσης της χολής λόγω της παγκρεατίτιδας, αποτέλεσε παράγοντα κινδύνου για την εισβολή προς την χοληδόχο κύστη του *Enterobacter cloacae*, που αποτελεί μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του λεπτού εντέρου. Δυστυχώς, από τη γάτα αυτή δεν πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια εντερικού περιεχομένου από το δωδεκαδάκτυλο και ως εκ τούτου δεν υπάρχει ακριβής εικόνα της εντερικής χλωρίδας. Αντίστοιχη υπόθεση ωστόσο, δεν μπορεί να εξηγήσει τη φλεγμονή στο χοληφόρο σύστημα που παρατηρήθηκε στις 29 γάτες με ευρήματα χολαγγειίτιδας της μελέτης μας, στις οποίες οι καλλιέργειες της χολής βρέθηκαν αρνητικές. Η δυνατότητα μετακίνησης βακτηρίων προς το ήπαρ και κατά συνέπεια και το πάγκρεας, μέσω του κοινού χοληδόχου και παγκρεατικού πόρου, δεν αποκλείει το σενάριο ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού σε παρόμοιες μικροβιακές εισβολές.

Ανακεφαλαιώνοντας, η παρούσα έρευνα έδειξε ότι τα φλεγμονώδη νοσήματα του γαστρεντερικού που συνδέονται με την τριαδίτιδα καθώς και το εντερι-



κό λέμφωμα, δεν σχετίζονται σε ότι αφορά στην αιτιοπαθογένειά τους με το βακτηριακό πληθυσμό της χλωρίδας του δωδεκαδακτύλου ή με πιθανή παρουσία βακτηρίων στη χολή. Το έντερο και το ήπαρ παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ανοσολογία του οργανισμού. Το πολύπλοκο σύστημα της εντερικής χλωρίδας, επηρεάζει πολλές λειτουργίες όπως και τη συνολική υγεία του οργανισμού και κάθε διαταραχή στην αλληλεπίδρασή του με τον τοπικό ανοσολογικό μηχανισμό του εντέρου θα μπορούσε να οδηγήσει σε γαστρεντερική νόσο.<sup>1,6-10</sup> Εν κατακλείδι, ένας ανοσολογικός μηχανισμός μπορεί να εμπλέκεται πίσω από την εμφάνιση της τριαδίτιδας στη γάτα.<sup>42,47</sup> Η χρήση σύγχρονων μοριακών μεθόδων ανάλυσης στη διερεύνηση της συσχέτισης των βακτηρίων της εντερικής χλωρίδας και της ποικιλότητας αυτών με τις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του εντέρου, του ήπατος και του παγκρέατος προβλέπεται να δώσει επιπλέον απαντήσεις.

## > ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οι συγγραφείς αναγνωρίζουν την συμβολή του Δρ. Γ. Μιενεξέ, Επίκουρου Καθηγητή Βιομετρίας και Γεωργικού Πειραματισμού, Τμήματος Γεωπονίας, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού περιβάλλοντος, Α.Π.Θ για την πραγματοποίηση της στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων της μελέτης. Επίσης, ευχαριστούμε τους ιδιοκτήτες των γατών, τους κτηνιάτρους, φοιτητές και το προσωπικό της Κλινικής των Ζώων Συντροφιάς, που συμμετείχαν στην έρευνα.

Ο πρώτος συγγραφέας (Φ.Φ) υποστηρίχθηκε από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (κωδικός 5321) για την πραγματοποίηση μέρους της παρούσας έρευνας.

## > Βιβλιογραφία

- Suchodolski JS. Companion Animals Symposium: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *J Anim Sci* 2011, 89: 1520-1530.
- Johnston K, Lamport A, Batt RM. An Unexpected Bacterial Flora in the Proximal Small-Intestine of normal cats. *Vet Rec* 1993, 132: 362-363.
- Sparkes AH, Papanoulitis K, Sunvold G, Werrett G, Clarke C, Jones M, Gruffydd-Jones TJ, Reinhart G. Bacterial flora in the duodenum of healthy cats, and effect of dietary supplementation with fructo-oligosaccharides. *Am J Vet Res* 1998, 59: 431-435.
- Johnston KL, Swift NC, Forster-van Hijfte M, Rutgers HC, Lamport A, Ballevre O, Batt RM. Comparison of the bacterial flora of the duodenum in healthy cats and cats with signs of gastrointestinal tract disease. *J Am Vet Med Assoc* 2001, 218: 48-51.
- Suchodolski JS. Gastrointestinal Microbiota. In: Canine and Feline Gastroenterology. Washabau RJ and Day MJ (eds). Elsevier Saunders: Missouri, 2013, pp. 32-41.
- German AJ, Day MJ, Ruaux CG, Steiner JM, Williams DA, Hall EJ. Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med* 2003, 17: 33-43.
- Inness VL, McCartney AL, Khoo C, Gross KL, Gibson GR. Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference to *Desulfovibrio* spp. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2007, 91: 48-53.
- Janecko S, Atwater D, Bogel E, Greiter-Wilke A, Gerold A, Baumgart M, Bender H, McDonough PL, McDonough SP, Goldstein RE, Simpson KW. The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. *Vet Microbiol* 2008, 128: 178-193.
- Xenoulis PG, Palculic B, Allenspach K, Steiner JM, Van House AM, Suchodolski JS. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS Microbiol Ecol* 2008, 66: 579-589.
- Packey CD, Sartor RB. Commensal bacteria, traditional and opportunistic pathogens, dysbiosis and bacterial killing in inflammatory bowel diseases. *Curr Opin Infect Dis* 2009, 22: 292-301.
- Craven M, Dogan B, Schukken A, Volkman M, Chandler A, McDonough PL, Simpson KW. Antimicrobial resistance impacts clinical outcome of granulomatous colitis in boxer dogs. *J Vet Intern Med* 2010, 24: 819-824.
- Suchodolski JS, Xenoulis PG, Paddock CG, Steiner JM, Jergens AE. Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Vet Microbiol* 2010, 142: 394-400.
- Suchodolski JS, Dowd SE, Wilke V, Steiner JM, Jergens AE. 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *Plos One* 2012, 7:e39333. doi: 10.1371/journal.pone.0039333.
- Johnston KL. Small intestinal bacterial overgrowth. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999, 29: 523-550.
- Johnston KL, Lamport A, Ballevre O, Batt RM. A comparison of endoscopic and surgical collection procedures for the analysis of the bacterial flora in duodenal fluid from cats. *Vet J* 1999, 157: 85-89.
- Fragkou FC, Adamama-Moraitou KK, Pouthaidis T, Prassinou NN, Kritsepi-Konstantinou M, Xenoulis PG, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS, Rallis TS. Prevalence and Clinicopathological Features of Triaditis in a Prospective Case Series of Symptomatic and Asymptomatic Cats. *J Vet Intern Med* 2016, 30: 1031-1045.
- Xenoulis PG, Steiner JM. Canine and feline pancreatic lipase immunoreactivity. *Vet Clin Pathol* 2012, 41: 312-324.
- Van den Ingh TS, Cullen JM, Twedt DC, Van Winkle T, Desmet VJ, Rothuizen J. Morphological classification of biliary disorders of the canine and feline liver. In: WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases. Rothuizen J, Bunch SE, Charles JE, Cullen JM, Desmet VJ, Szatmari V, Twedt DC, Van den Ingh TS, Van Winkle T, Washabau RJ (eds). Elsevier: Philadelphia, 2006, pp. 68-71.
- De Cock HEV, Forman MA, Farver TB, Marks SL. Prevalence and histopathologic characteristics of pancreatitis in cats. *Vet Pathol* 2007, 44: 39-49.
- Washabau RJ, Day MJ, Willard MD, Hall EJ, Jergens AE, Mansell J, Minami T, Bilzer TW. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. *J Vet Intern Med* 2010, 24: 10-26.
- Quinn PT, Carter ME, Markey BQ, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby, 1999.
- Mehta CR, Patel NR. Exact logistic regression: theory and examples. *Stat Med* 1995, 14: 2143-2160.
- Xenoulis PG, Palculic B, Allenspach K, Steiner JM, Van House AM, Suchodolski JS. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS Microbiology Ecology* 2008, 66: 579-589.
- Hirsch VM, Doige CE. Suppurative cholangitis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1983, 182: 1223-1226.
- Brain PH, Barrs VR, Martin P, Baral R, White JD, Beatty JA. Feline cholecystitis and acute neutrophilic cholangitis: clinical findings, bacterial isolates and response to treatment in six cases. *J Feline Med Surg* 2006, 8: 91.
- Rothuizen J. Liver-Diseases of the biliary system in cats. In: *Small Animal Gastroenterology*. Steiner JM (ed). Schlütersche: Hannover, 2008, pp. 275-278.
- Harvey AM, Gruffydd-Jones TJ. Feline Inflammatory Liver Disease. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat*. Ettinger SJ and Feldman EC (eds). 7th edn. Saunders, Elsevier: St Louis, 2010, pp. 1643-1709.
- Wagner KA, Hartmann FA, Trepanier LA. Bacterial culture results from liver, gallbladder or bile in 248 dogs and cats evaluated for hepatobiliary disease: 1998-2003. *J Vet Intern Med* 2007, 21: 417-424.
- Savary-Bataille KCM, Bunch SE, Spaulding KA, Jackson MW, Law JM, Stebbins ME. Percutaneous ultrasound guided cholecystocentesis in healthy cats. *J Vet Intern Med* 2003, 17: 298.
- Kaufman AC. Infectious causes of feline hepatobiliary disease. *Vet Med* 1994, 89: 869-873.
- Day DG. Feline cholangiohepatitis complex. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1995, 25: 375-385.
- Center SA. Diseases of the gall bladder and biliary tree. In: *Small Animal Gastroenterology*. Guilford WG, Center SA, Strombeck DR, Williams DA, MeyerDJ (eds). 3rd edn. Saunders: Philadelphia, 1996, pp. 860-888.
- Center SA. Hepatobiliary infections. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Greene CE (ed). 2nd edn. WB Saunders: Philadelphia, 1998, pp. 615-625.
- Lapointe JM, Higgins R, Barrette N, Milette S. *Enterococcus hirae* enteropathy with ascending cholangitis and pancreatitis in a kitten. *Vet Pathol* 2000, 37: 282-284.
- Mayhew PD, Holt DE, McLEAR RC, Washabau RJ. Pathogenesis and outcome of extrahepatic biliary obstruction in cats. *J Small Anim Pract* 2002, 43: 247-253.
- Weiss DJ, Armstrong PJ, Gagne J. Inflammatory liver disease. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1997, 12: 22-27.
- Zawie DA, Garvey MS. Feline hepatic disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1984, 14: 1201.
- Center SA, Rowland PH. The cholangitis/cholangiohepatitis complex in the cat. In: *Congress Proceedings of ACVIM Forum*. San Francisco, 1994, pp. 766-771.
- Rállis TS. Νοσήματα του ήπατος. Στο: *Γαστρεντερολογία του Σκύλου και της Γάτας*. Ρállis TS (ed). 2η έκδοση, University Studio Press: Θεσσαλονίκη, 2006, pp. 227-310.
- Prasse KW, Mahaffey EA, De Novo R, Cornelius L. Chronic lymphocytic cholangitis in three cats. *Vet Pathol* 1982, 19: 99-108.
- Day MJ. Immunohistochemical characterization of the lesions of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *J Comp Pathol* 1998, 119: 135-147.
- Warren A, Center S, McDonough S, Chiotti R, Goldstein R, Meseck E, Jacobsen M, Rowland P, Simpson K. Histopathologic features, Immunophenotyping, Clonality, and Eubacterial Fluorescence In Situ Hybridization in Cats with Lymphocytic Cholangitis/Cholangiohepatitis. *Vet Pathol* 2011, 48: 627-641.
- Boomkens SY, Kusters JG, Hoffmann G, Pot RG, Spee B, Penning LC, Egberink HF, van den Ingh TS, Rothuizen J. Detection of *Helicobacter pylori* in bile of cats. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004, 42: 307-311.
- Greiter-Wilke A, Scanziani E, Soldati S, McDonough SP, McDonough PL, Center SA, Rishniw M, Simpson KW. Association of *Helicobacter* with cholangiohepatitis in cats. *J Vet Intern Med* 2006, 20: 822-827.
- Simpson KW. Is there a direct link between IBD, Cholangitis, and Pancreatitis in cats? (abstract). In: *Congress Proceedings of ECVIM-CA*. Maastricht, The Netherlands, 2012, pp. 169-171.
- Kordick DL, Brown TT, Shin K, Breitschwerdt EB. Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 1536-1547.
- Simpson KW. Pancreatitis and triaditis in cats: causes and treatment. *J Small Anim Pract* 2015, 56: 40-49.